

aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. Hansjürgen R a e t t i g

SEKRETION VON T_3 -PHAGEN ALS MODELLVIRUS IN DEN
MAGEN DER MAUS NACH INTRAVENÖSER INJEKTION

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Eckhard Sahm
aus Berlin

1968



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Robert Koch-Institut Berlin
Abteilung für Bakteriologie und Seuchenforschung
Direktor: Professor Dr. Hansjürgen Raetzig

SEKRETION VON T_3 -PHAGEN ALS MODELLVIRUS IN DEN
MAGEN DER MAUS NACH INTRAVENÖSER INJEKTION

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Eckhard Sahm
aus Berlin

Dekan: Professor Dr. med. Hans Heinz N a u r m a n n

Referent: Professor Dr. Hansjürgen Raettig

Korreferent: Professor Dr. Bernhard Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 16. 12. 1968



E i n l e i t u n g

Es ist bereits seit längerer Zeit bekannt, daß die Schleimhaut des Intestinaltraktes von kleinsten Partikeln innerhalb kurzer Zeit durchdrungen werden kann. HERBST (9) berichtete 1844 als erster darüber, daß oral verfütterte Stärkekörner unverändert im Ductus thoracicus und im Blut des Hundes erscheinen. VOLKHEIMER (32,35), der die Versuche auch mit anderen korpuskulären Elementen durchführte, hat dieses Phänomen bestätigt und es nach seinem Entdecker "Herbst-Effekt" benannt. Die Partikel werden durch die Motorik der Muscularis mucosae an den Desquamationszonen des Darmepithels (34) sowie durch die normalen Zellzwischenräume hindurch (33) in das Stroma der Schleimhaut eingeknetet. Die Grenzgröße für diese parazelluläre Resorption, die VOLKHEIMER jüngst mit Persorption bezeichnet hat (33), ist 65 - 70 Mikron (22,32). So ist es verständlich, daß auch Viren nach oraler Gabe im Blut erscheinen; dabei tritt ein kleiner Teil direkt in das Blut der Vena portae über, der weitaus größte Teil wird von der Lymphe über den Ductus thoracicus in das Blut transportiert (10). HOFFMANN fand bereits 15 Minuten nach Fütterung einer Phagensuspension bei 66 % der Versuchstiere das Virus im strömenden Blut (11) und der Phage des Bact. megaterium tritt schon 5 Minuten nach Magenspülung bei 71,8 % der untersuchten weißen Mäuse in das Blut über (14). RAETTIG fand den Coli-Phagen T₃ ebenfalls 15 Minuten nach oraler Gabe im Blut (22). Diese Versuche zur Resorptionsviraemie hat RAETTIG auch mit den für Mäuse enteropathogenen Parapoliomyelitis-Viren (Col. SK), die er auf junge Mäuse verfütterte, durchgeführt (23) und ist zu gleichen Ergebnissen gekommen. Da es nach Minuten noch nicht zu einem Infek-

tionsvorgang mit Vermehrung des Virus im Darmepithel gekommen sein kann, muß eine parazelluläre Resorption durch die Intestinalschleimhaut vorliegen. MEVES (18) hat die Aufnahme und Verteilung von radio-markierten Antigen aus *S.typhi murium*-Bakterien in der Maus untersucht und gezeigt, daß dieses bei oraler Gabe ebenfalls sehr rasch resorbiert wird. Daneben hat er aber auch bei subcutaner Applikation des Antigens größere Mengen davon im Mageninhalt gefunden, woraus er auf eine Sekretion schließt. BARANDUN, MUSSLÉ, WITSCHI und BUSER konnten bei gesunden Säuglingen und Kleinkindern radiomarkierte Plasmaproteine im Magen- und Darminhalt nachweisen (1). KELLER und ENGLEY, wie auch schon 1921 APPELMANS (14), haben parenteral injizierte Phagen bei Mäusen wenige Stunden später in den Faeces gefunden. Es ist daher anzunehmen, daß neben der bekannten Resorption auch eine Sekretion von Phagen in den Magen-Darm-Kanal stattfindet.

Meine Aufgabe ist es, den zuletzt genannten Untersuchungen nachzugehen und bei der Maus die Sekretion von Viren in den Magen nach intravenöser Gabe am Modell des Coli-Phagen T_3 zu untersuchen.

Material und Methoden

Versuchstiere:

Für die Versuche wurden weiße Mäuse aus der Zucht des Robert Koch-Institutes (NMRI - Stamm) mit einem Durchschnittsgewicht von 18 g verwendet. Die Auswahl nach Alter und Geschlecht geschah zufällig. Insgesamt wurden in Haupt- und Nebenversuchen etwa 250 Mäuse untersucht.

Phage:

Als Modellvirus diente der Coli-Phage T₃, der mit Escherichia coli B vermischt auf Agrarplatten vermehrt wurde. Die Phagen wurden dann durch Abschwemmung der Platten mit Leitungswasser und anschließender Filtration gewonnen.

Vorbereitung der Versuchstiere:

Da die Phagen unter pH 5 und über pH 10 schnell inaktiviert werden (7,8), wurde den Tieren vor den Versuchen (bzw. bei langer Versuchsdauer im Abstand von zwei Stunden) 0,2 ml einer 6,0 prozentiger Natriumbicarbonatlösung durch eine Schlundsonde in den Magen gegeben. Dadurch wurde der pH des Mäusemagensaftes nach eigenen Untersuchungen von 2 - 3 nach pH 7 - 8 verschoben.

Anwendungsart:

Bei den Versuchszeiten bis zu 15 Minuten wurden 0,2 ml (Titer: $3,6 \times 10^9$ Phagen/ml), bei allen anderen Versuchen 0,1 ml (Titer: 1×10^{10} Phagen/ml) Phagensuspension in die Schwanzvene der Mäuse injiziert. Die Tiere wurden anschließend so gehalten, daß sie die Injektionsstelle nicht belecken konnten.

Bestimmung des Phagentiters im Mageninhalt:

A. Nullwerte, Kurzzeiten (2', 3', 4', 5').

Nach Narkotisierung der Mäuse mit Äther und Eröffnung der Bauchhöhle, wurde vom Dünndarm aus, etwa 2 cm unterhalb des Pylorus, eine Knopfsonde in den Magen geschoben und mit zwei Catgut - Ligaturen fixiert. Zu den angegebenen Zeiten wurden etwa 0,2 - 0,3 ml Magensaft mit einer Recordspritze aspiriert. Da zum Teil der Mageninhalt sehr dickbreiig war, wurde in diesen Fällen vor der Probenentnahme 0,3 - 0,4 ml sterile physiologische NaCl-Lösung über die Sonde in den Magen gegeben. Der aspirierte Magensaft wurde mit 2,0 ml sterilem Leitungswasser verdünnt, um gleiche Verhältnisse wie bei den Langzeitversuchen zu schaffen. Bei allen Versuchen wurde auf größte Bluttrockenheit geachtet; Tiere, die stark bluteten, wurden aus den Versuchen genommen.

B. Langzeitversuche (5' bis 18^h).

Die Tiere wurden nach den angegebenen Zeiten getötet und der Magen, nach Unterbindung am oralen und aboralen Ende in toto entnommen und sofort bei - 18°C eingefroren. Der Phagengehalt hat durch die Tiefkühlung nur eine geringe Einbuße erlitten (21). Nach etwa 24 h habe ich den gefrorenen Mageninhalt im ganzen entnommen und in 2,0 ml sterilem Leitungswasser aufgetaut.

C. Ösophagusligatur.

Bei dieser Versuchsreihe wurde der Ösophagus knapp oberhalb der Cardia unterbunden. Dadurch sollte ein Verschlucken von Speichel und Bronchialsekret verhindert werden. Erst nach der Ligatur erfolgte die

Injektion der Phagensuspension. Nach 15 Minuten wurden die Mäuse getötet und der Magen, nach Unterbindung in Pylorusnähe, in toto entnommen. Die weitere Verarbeitung erfolgte wie bei B.

Die Magensaft-Leitungswasser-Verdünnungen habe ich in üblicher Weise austitriert und mit frischer Coli B-Brühe versetzt. Davon wurden 0,3 ml auf Wasserblau-Dextrose-Agrarplatten gebracht. Das Ergebnis wurde auf Phagen pro Milliliter der verdünnten Magensaftflüssigkeit umgerechnet.

E r g e b n i s s e

Aus der Tatsache, daß Phagen im sauren Milieu nach sehr kurzer Zeit inaktiviert werden (7,8), ergibt sich schon, daß normalerweise keine Phagen im Mageninhalt vorkommen. Dies konnte durch meine Untersuchungen bestätigt werden (Nullwerte), denn in keinem Fall konnten Phagen im Mageninhalt von Mäusen gefunden werden, die nicht vorher damit in Berührung gekommen sind. Injiziert man jedoch Phagen intravenös, so werden bereits 2 Minuten danach bei 15 % der untersuchten Tiere Phagen im Mageninhalt gefunden. Der Blutspiegel beträgt dabei Minuten nach der von mir injizierten Phagenmenge 10^8 bis 10^9 Phagen/ml, wenn man die Blutmenge der Maus mit 1 ml annimmt. Im Magensaft steigt der Phagentiter sehr rasch an (Abb. 1 und 2) und hat 30 Minuten p.i. sein Maximum erreicht. Der Durchschnittswert aus 21 Mäusen beträgt zu diesem Zeitpunkt $1,2 \times 10^3$ Phagen/ml. Der Titer fällt anschließend langsam ab, nach 4 Stunden kommt es zu einem erneuten, schwachen Anstieg, und nach 18 Stunden können keine Phagen mehr im Magensaft nachgewiesen werden. Eine Sekretion von Viren zu diesem Zeitpunkt ist nicht zu erwarten, denn nach anderen Untersuchungen (23,15) steht fest, daß nach 18 Stunden bereits fast alle Phagen aus dem Blut eliminiert worden sind. Aus diesem Grund habe ich hier nur 5 Mäuse untersucht. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Die Sekretionsquote erreicht nach 30 bis 60 Minuten das Maximum; es konnten bei über 90 % der Versuchstiere Phagen im Magensaft nachgewiesen werden. Bei einem geringen Prozentsatz der Mäuse wurden keine Bakteriophagen im Mageninhalt gefunden. Ob das ein grundsätzlicher oder zeitlich zufälliger Befund ist, muß noch geklärt werden. Abbildung 4 zeigt die Kurve, die sich ergibt,

wenn man die Sekretionsquoten in ein Koordinatensystem einträgt. Die Ähnlichkeit mit Abbildung 2 ist unverkennbar. Jedoch fehlt die ausgeprägte Spitze beim 30-Minuten-Wert. In Abbildung 4 verläuft der Gipfel abgerundeter; außerdem kommt es nicht zu einem erneuten Kurvenanstieg nach 4 Stunden.

Die Werte bei Versuchsdauern bis zu 5 Minuten wurden mit der Methode A ermittelt, die es gestattete, in sehr kurzen Abständen Magensaftproben zu entnehmen. Für längere Versuchszeiten war diese Methode jedoch unbrauchbar, da die Tiere mit eröffneter Bauchhöhle und liegender Knopfsonde nicht lange am Leben erhalten werden konnten. Deshalb wurde für spätere Versuchszeiten die Methode B gewählt. Lediglich der 5-Minuten-Wert wurde mit beiden Methoden bestimmt. Dabei ergab sich, daß der nach Methode B bestimmte Wert um etwa das 28-fache höher liegt. Dies kann nur so geklärt werden, daß die kurze Zeit, die bei dem 5-Minuten-Wert für die langwierige Präparation des Magens zur Verfügung stand, überschritten wurde und durch Zeitdruck bedingtes unsauberes Arbeiten nicht völlig auszuschließen ist. Die Bestimmung des 5-Minuten-Wertes mit dieser Methode erscheint deshalb nicht exakt, und für die graphischen Darstellungen wurde der nach Methode A ermittelte Wert verwendet.

Bei 21 Versuchstieren wurde vor der Injektion der Phagensuspension der Oesophagus oberhalb der Cardia unterbunden, um ein Verschlucken von Speichel und Bronchialsekret zu verhindern. Es sollte die alleinige Sekretion der Magenschleimhaut untersucht werden. 15 Minuten p.i. wurde der Magen entnommen und wie bei Methode B verarbeitet. Das Ergebnis ist in Tabelle 2 zusammengefaßt und in Abbildung 3 graphisch dargestellt

worden. Bei den Mäusen, bei denen eine Oesophagusligatur angelegt wurde, konnte ein ganz erheblich geringerer Phagengehalt im Magen nachgewiesen werden. Die Sekretionsquote ist mit 38,1 % um etwa die Hälfte niedriger als bei Tieren ohne Ligatur. Betrachtet man den durchschnittlichen Titer, so ist der Unterschied noch eklatanter; hier ist nämlich der Wert um das 18-fache niedriger.

Diese Untersuchungen zeigen, daß der größte Teil der im Magensaft gefundenen Viren nicht durch die Magenschleimhaut, sondern auf dem Wege über den Oesophagus in den Magen gelangt.

Zeitpunkt d. Entnahme	Nullwerte	2'	3'	4'	5'	5'	10'	15'	30'	60'	120' 2h	240' 4h	360' 6h	1080' 18h
	0	0	30	170	4,8 x 10 ²	1,1 x 10 ⁵	30	86 x 10 ³	9,4 x 10 ³	20	10	26 x 10 ²	86 x 10 ²	0
	0	0	0	0	0	2,3 x 10 ²	38 x 10 ⁴	6,7 x 10 ³	140	19 x 10 ²	10	25	0	0
	0	0	0	0	0	26 x 10 ³	20	68 x 10 ³	69 x 10 ⁴	20	20	17 x 10 ³	0	0
	0	0	0	0	50	3,3 x 10 ⁴	35 x 10 ³	26 x 10 ²	59 x 10 ³	4,4 x 10 ³	5,4 x 10 ³	33 x 10 ²	0	0
	0	10	60	60	70	4,4 x 10 ³	4,2 x 10 ⁴	85	1,4 x 10 ³	4,4 x 10 ³	7,7 x 10 ²	25	70	0
	0	10	10	120	130	0	80 x 10 ⁴	0	78 x 10 ³	1,4 x 10 ³	45	55 x 10 ²	0	0
	0	0	0	0	10	28 x 10 ⁴	70	48 x 10 ²	5,4 x 10 ³	10	16 x 10 ²	0	10	0
	0	0	0	10	20	0	10	15 x 10 ⁴	1,2 x 10 ⁴	10 x 10 ²	40	22 x 10 ³	0	0
	0	0	0	0	10	87 x 10 ⁴	23 x 10 ²	0	8,4 x 10 ⁴	25 x 10 ²	20	35	13 x 10 ³	0
	0	0	0	0	0	28 x 10 ³	40	10 x 10 ⁵	10	1,8 x 10 ³	100	18 x 10 ³	0	0
	0	0	0	10	20	19 x 10 ²	29 x 10 ²	48 x 10 ²	35 x 10 ²	1,4 x 10 ²	10	29 x 10 ³	0	0
	0	0	0	0	0	37 x 10 ³	75	0	4,4 x 10 ⁵	0	50	30 x 10 ³	28 x 10 ³	0
	0	0	10	45	170	23 x 10 ²	0	36 x 10 ²	45 x 10 ⁴	65 x 10 ³	0	15 x 10 ⁴	13 x 10 ³	0
	0	0	40	10	20	50	30	17 x 10 ²	50	3,4 x 10 ⁴	0	33 x 10 ³	0	0
	0	0	0	30	170	16 x 10 ³	10	15	0	93 x 10 ²	27 x 10 ³	0	0	0
	0	0	0	65	90	10	10 x 10 ²	80 x 10 ²	1,4 x 10 ⁴	0	0	0	0	0
	0	30	0	75	80	75 x 10 ²	80	2,4 x 10 ²	13 x 10 ²	4,4 x 10 ²	0	0	0	0
	0	0	0	70	0	0	17 x 10 ³	13 x 10 ²	0	36 x 10 ⁴	0	0	1,4 x 10 ²	0
	0	0	0	10	40	6,2 x 10 ³	10	80	20	40	10 x 10 ³	0	0	0
	0	0	0	0	0	90	0	0	3,4 x 10 ²	4,9 x 10 ³	20 x 10 ²	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	100	6,7 x 10 ⁴	55	100	0	0	0
A	0	15	22	78	14,2	395,8	102,0	187,6	126,0	288,3	33,8	54,6	69	0
B	0	15	25	51,1	66,7	80,9	85,7	80,9	90,5	90,5	76,2	61,8	33,3	0

Tab. 1: Phagengehalt im Magensaft 0 bis 18 Stunden (=194 Mäuse)

A: geometrisches Mittel B: Prozentzahlen d. positiven Werte

Anzahl der Phagen

Abb.1 Anzahl der in den Magensaftproben gefundenen T_3 -Phagen (Mittelwerte aus 194 Mäusen), doppelt logarithmischer Maßstab.

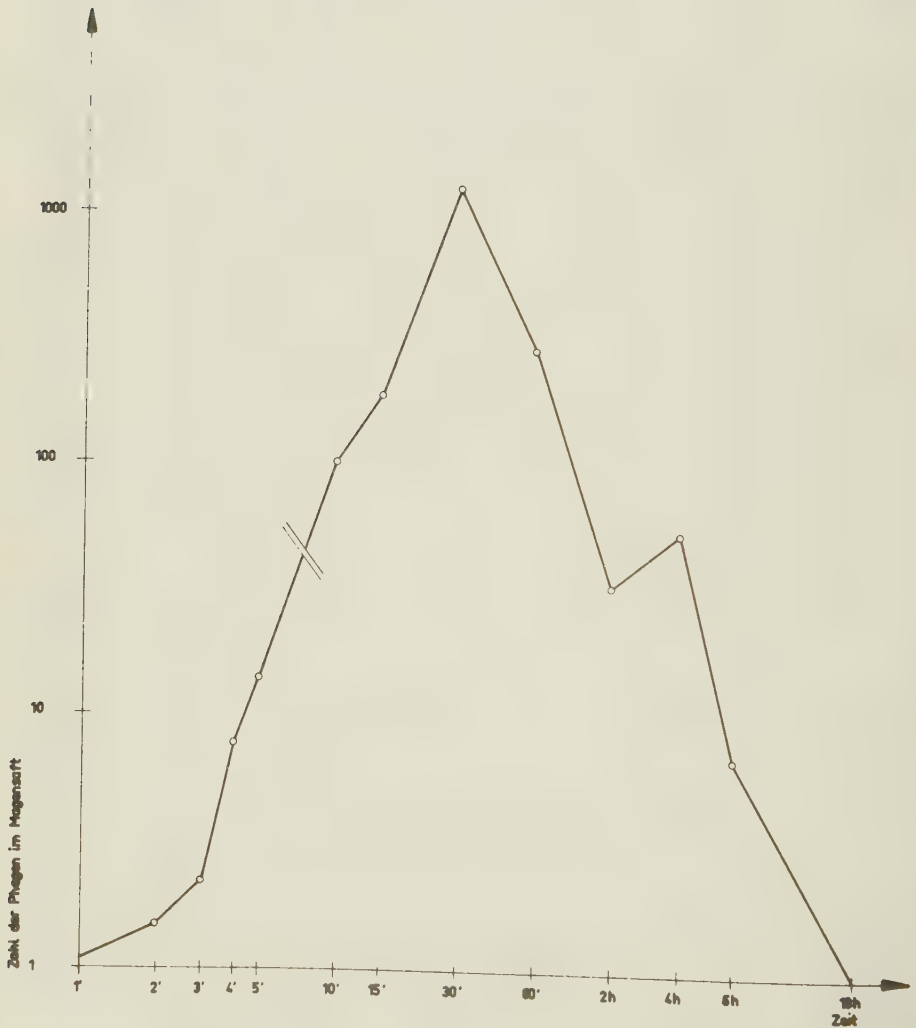
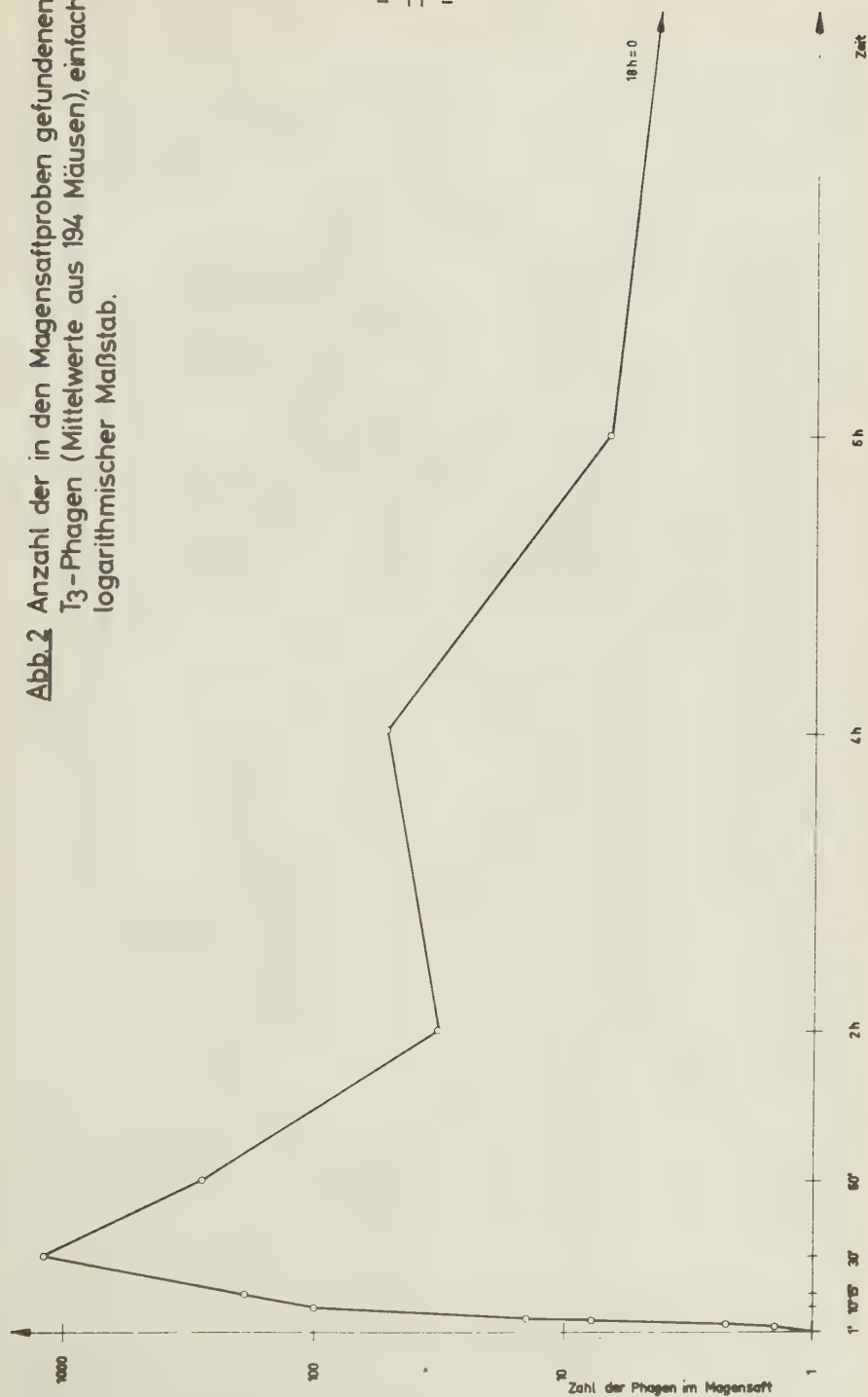


Abb. 2 Anzahl der in den Magensaftproben gefundenen T₃-Phagen (Mittelwerte aus 194 Mäusen), einfach logarithmischer Maßstab.



<u>o h n e</u>	<u>m i t</u>
<u>Ösophagusligatur</u>	
8,6 x 10 ³	0
6,7 x 10 ³	0
6,8 x 10 ³	5,2 x 10 ²
2,6 x 10 ²	0
85	0
0	0
4,8 x 10 ²	0
4,8 x 10 ²	25
1,5 x 10 ⁴	10
0	0
1,0 x 10 ⁵	1,0 x 10 ⁴
0	0
3,6 x 10 ²	5,5 x 10 ³
1,7 x 10 ²	0
15	7,0 x 10 ²
8,0 x 10 ²	0
2,4 x 10 ²	0
1,3 x 10 ²	1,0 x 10 ³
80	0
0	8,7 x 10 ²
1,0 x 10	0
187,6	A 10,7
80,9 %	B 38,1 %

Tab. 2:

Anzahl der im Magen-
inhalt gefundenen T₃-
Phagen bei Mäusen mit
und ohne Ösophagus-
ligatur (= 42 Mäuse).

A: Geometrisches Mittel

B: Prozentzahlen der
positiven Werte
(15 Minuten nach Injek-
tion der Phagensuspension)

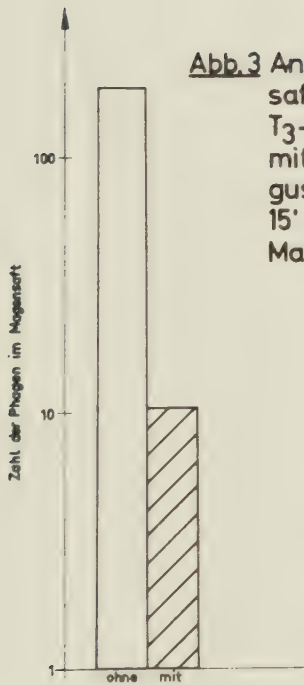
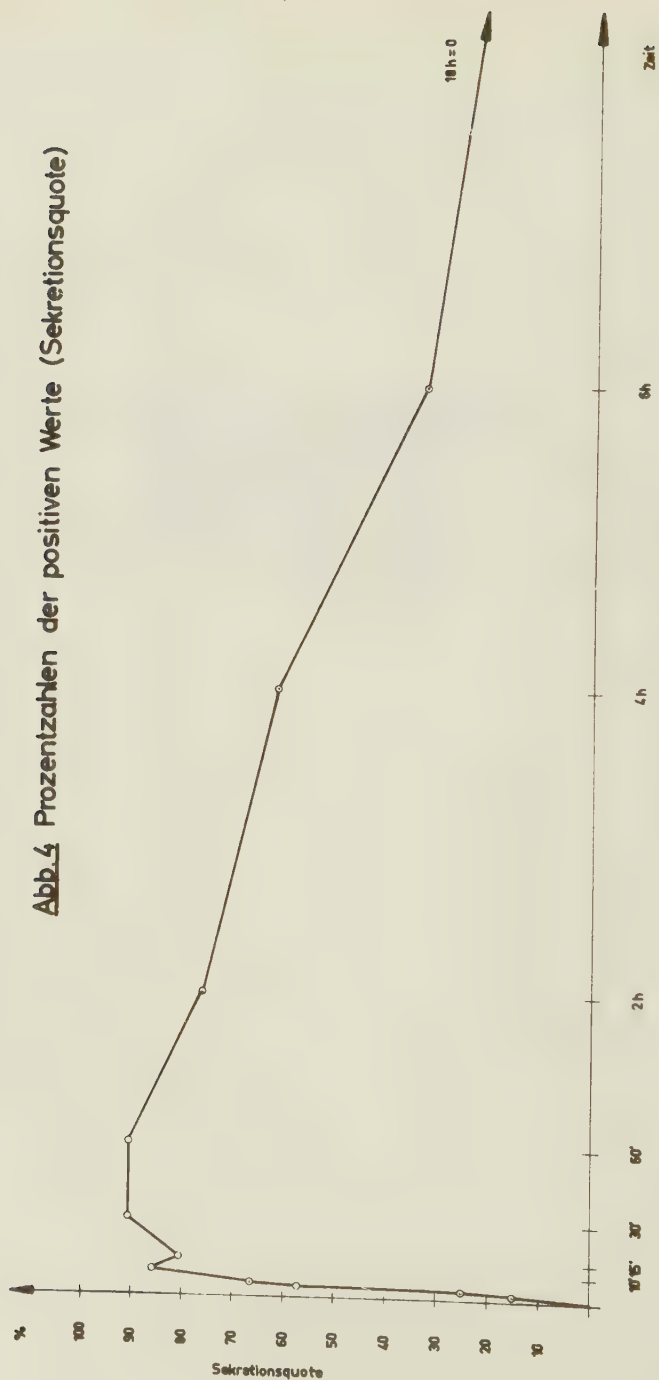


Abb. 3 Anzahl der in den Magen-saftproben gefundenen T_3 -Phagen bei Mäusen mit und ohne Ösophagusligatur. (= 42 Mäuse) 15' p. i. Logarithmischer Maßstab.

Abb. 4 Prozentzahlen der positiven Werte (Sekretionsquote)



D i s k u s s i o n

Mit diesen Untersuchungen konnte ich zeigen, daß neben der bekannten Resorption auch eine Sekretion von Viren in den Magen vorkommt. Phagen eignen sich sehr gut für solche Versuche, denn sie sind in ihrer Größe vergleichbar mit den meisten Viren, können sich jedoch nicht wie diese in tierischen Zellen vermehren. Auffallend ist die außerordentlich kurze Zeit, die für die Ausscheidung benötigt wird - die ersten Phagen erscheinen bereits 2 Minuten nach der Injektion im Mageninhalt. Das muß als Beweis dafür angesehen werden, daß hier kein aktiver zellulärer Sekretionsmechanismus vorliegt, wofür die Ausscheidungszeit zu kurz wäre. Ebenso wie bei der Resorption der Viren (11,14,22,23) muß eine parazelluläre Durchwanderung der Schleimhaut, diesmal allerdings in entgegengesetzter Richtung, angenommen werden. Die Penetrationsorte für die Viren sind nicht nur die Desquamationszonen der Magen-Darmschleimhaut, sondern, wie VOLKHEIMER (33) kürzlich nachgewiesen hat, auch die Zellzwischenräume des normalen Darmepithels (Persorption). Auch an anderen Orten des Organismus kommt es zu einer sehr schnellen Durchdringung von Epithelien, so daß der parazelluläre Ausscheidungsmechanismus nicht nur für den Magen-Darm-Trakt angenommen werden muß. So können Coxsackie B-1 Viren 3 Minuten nach intravenöser Gabe bei Hunden im Urin nachgewiesen werden (16). Selbst größere Korpuskel, wie intakte Hefezellen, überwinden die Nierenschranke (35).

Ob allerdings die Phagen in der ermittelten kurzen Zeit direkt über die Magenschleimhaut ausgeschieden werden ist fraglich. Für die kurze Sekretionszeit können auch die Speicheldrüsen verantwortlich sein, so daß die ersten Phagen, die ich im Magen gefunden habe, mit verschlucktem Speichel dorthin gelangt sein könnten.

MADONIA, BAHN und CALANDRA (17) haben nämlich Cocksackie B-1 Viren bereits zwei Minuten nach intravenöser Injektion im Speichel nachgewiesen. Auf die Phagensekretion über die Speicheldrüsen gehe ich später nochmals ein.

Der steile Anstieg der Kurve ist durch den hohen Phagentiter im Blut bedingt, der, wie erwähnt, anfangs bei 10^8 Phagen/ml liegt. Der größte Teil der ausgeschiedenen Phagen wird in den ersten 30 Minuten nachgewiesen. Nach Erreichen des Spitzenwertes (30' p.i.) fällt der Phagentiter des Magensaftes nur langsam ab. Die Abnahme der Phagenmenge im Magen hat drei Ursachen. Einmal werden durch den fallenden Phagenspiegel im Blut (11,22,23) weniger Viren sezerniert, zum anderen kommt es zu einer Rückresorption, worauf ich später noch eingehen werde, und ein weiterer Teil der Phagen wird durch den Kot ausgeschieden (14).

Der Gipfel der Sekretionsquote liegt mit 90,5 % nach 30 und 60 Minuten sehr hoch. Das bedeutet aber auf der anderen Seite, daß bei einem geringen Prozentsatz der Mäuse keine Phagen nachweisbar sind. Ob das eine Zufallsstreuung oder ein von der Technik abhängiger Befund ist, muß noch geklärt werden. Es ist auch möglich, daß bei einigen Tieren grundsätzlich keine Ausscheidung stattfindet, weil entweder das Epithel nicht penetriert werden kann oder die Viren bereits im Blut inaktiviert werden. Die Kurven des mittleren Phagentiters und der Sekretionsquoten wurden bereits in den Ergebnissen miteinander verglichen.

Vier Stunden nach Phageninjektion kommt es zu einem erneuten Anstieg des Titers auf 54,6 Phagen/ml, nachdem dieser zwei Stunden vorher schon auf 33,8 Phagen/ml abgesunken war. Das ist insofern bedeutend, als darin ein Zeichen für einen Kreislauf der Viren im Körper gesehen werden kann. Die Phagen könnten nämlich aus dem

Magen-Darmstrakt resorbiert und dann erneut in den Magen sezerniert worden sein. Dafür spricht auch die Ähnlichkeit meiner Kurve (Abb. 2) mit der Kurve für die Resorptionsvirämie (RAETTIG 22,23). Beide Kurven lassen einen steilen Anstieg, den Gipfel 30 Minuten nach Applikation und einen langsamen Abfall des Titors erkennen. RAETTIG konnte vier Stunden nach Phagengabe (analog zu meinen Ergebnissen) einen Anstieg, zumindest aber keinen weiteren Abfall der Virämiequote feststellen, was ebenfalls als Zeichen für einen intraorporalen Kreislauf zu werten ist: nach Sekretion der Phagen kommt es zu einer erneuten Resorption aus dem Magen-Darmkanal mit Virämiequotenanstieg. Auch MEVES (18) hat auf einen solchen Kreislauf hingewiesen.

Die starke Übereinstimmung der Kurven, besonders auch der Abbildung 4 mit der Normkurve der Resorptionsvirämie (RAETTIG, 23), möchte ich auch als Zeichen dafür werten, daß Resorption wie auch Sekretion von Viren über die gleichen Mechanismen laufen.

Wie erwähnt, konnten bei einem Teil der Mäuse überhaupt keine Phagen nachgewiesen werden. Bei anderen Tieren wiederum findet eine sehr starke Sekretion statt. Für die beträchtlich schwankenden Phagentiter im Mageninhalt bei den einzelnen Versuchszeiten kann einmal die unterschiedliche Durchlässigkeit des Epithels für Viren verantwortlich sein. Zum anderen können die Schwankungen auch durch einen unterschiedlich hohen Blutspiegel des Properdins entstanden sein, was KELLER (13) vermutet hat. Natürlich können auch die anderen Abwehrmechanismen im Blut verschieden große Aktivität besitzen und damit Auswirkungen auf die Ausscheidung haben.

Die Phagen werden nämlich durch folgende Mechanismen aus dem Blut eliminiert: Erstens durch eine humorale unspezifische Abwehr (Properdin); das haben die Unter-

suchungen von SULKIN, FINKELSTEIN und ROSENBLUM ergeben (30). Zweitens durch unspezifische Adsorption der Phagen an Zelloberflächen (KELLER und ZATZMANN, 15), und drittens werden die Phagen durch das RES (Milz, Leber) abgefiltert (11,15). Dazu kommt, wie meine Untersuchungen gezeigt haben, eine weitere sehr wichtige Eliminationsmöglichkeit, nämlich die Sekretion der Phagen über die Schleimhäute des Magen-Darmkanals und des Respirationstraktes. Auch die Ausscheidung über die Nieren (14,28,16,15,29,19) dürfte einige Bedeutung für die Entfernung von Viren aus dem Blut haben.

Jetzt möchte ich mich der Frage zuwenden, auf welchem Weg die Phagen in den Magensaft gelangen. Einmal werden sie über die Magenschleimhaut selbst ausgeschieden, denn auch nach Ligatur des Ösophagus konnte ich Phagen im Magensaft nachweisen. Ob die gesamte Schleimhaut oder nur gewisse Anteile (Drüsen) dafür in Betracht kommen, muß noch geklärt werden. Jedoch sind nur 38,1 % der Tiere fähig, die Viren über die Magenschleimhaut selbst zu sezernieren; deshalb ist auch der durchschnittliche Titer niedrig. Wenn jedoch der Ösophagus durchgängig war, fand ich bei mehr als der doppelten Anzahl der Mäuse (80,9 %) Viren im Mageninhalt; der durchschnittliche Titer stieg auf über das 18-fache an (Tab. 2, Abb. 3)! Das beweist, daß bei einem großen Teil der Versuchstiere die Phagen durch den Ösophagus in den Magen gelangen: entweder im Speichel oder im verschluckten Bronchialsekret.

Die Viren können über die gesamte Rachenschleimhaut oder die Speicheldrüsen in den Speichel gelangen. Daß Speicheldrüsen auch als Ausscheidungsorgan wirken können, ist bekannt. Bei Nierenerkrankungen kommt es zur Exkretion von harnpflichtigen Substanzen (Harnstoff, Harnsäure, Kreatinin). auch parenteral zugeführte Vital-

farbstoffe (Indigokarmin) werden durch die Drüsen ausgeschieden (2), und SCHEIN und TUNG haben parenteral appliziertes Protein im Speichel nachgewiesen (27). Aber auch die Sekretion von Viren über die Speicheldrüsen ist nachgewiesen worden (17).

Andererseits könnten die Phagen auch über das Gewebe des lymphatischen Rachenringes sezerniert werden. EIGLER (6) erwähnt, daß die Erreger verschiedener Allgemeinfektionen wie Scharlach, Masern, Rotlauf, Bauchtyphus und Kuhpocken auf und in den Tonsillen nachgewiesen werden können, was auf die Möglichkeit hinweist, daß diese pathogenen Mikroorganismen dort ausgeschieden werden.

Diese Ausführungen zeigen, daß Viren solange im Speichel vorkommen, wie ein gewisser Virenspiegel im Blut vorhanden ist. Bei pathogenen Keimen bleibt also für diese Zeitspanne eine Ansteckungsfähigkeit durch Tröpfcheninfektion erhalten. Werden Keime im Speichel oder auf den Tonsillen gefunden, so bedeutet das nicht, daß diese durch eine gerade stattgefundene Infektion oral dorthin gelangt sein müssen, denn auch zu jedem Zeitpunkt einer Infektionsviraemie (22,23) können sie aus dem Blut dorthin sezerniert werden. Meine Untersuchungen stellen somit auch ein Modell für die Pathogenese von Infektionskrankheiten dar.

Ein weiterer Weg, auf dem die Phagen über den Ösophagus in den Magen gelangt sein können, läuft über den Respirationstrakt. MEVES fand bei seinen Untersuchungen verstärkte Aktivität in den Lungen (18), was darauf hindeutet, daß dort markiertes Antigen ausgeschieden wird. Alveolarzellen können nämlich aus dem Blut herangeführte Stoffe wie Fett und Cholesterin speichern (BARGMANN, 2). Umgekehrt können sie aber auch Staub,

Ruß, Bakterien u.a. phagozytieren; die beladenen Zellen werden dann ausgehustet. Auch über die in den letzten Verzweigungen der Bronchiolen liegenden granulierten Epithelzellen (CLARA, 5), die nach dem Modus der apokrinen Sekretion arbeiten, können Phagen ausgeschieden werden. Diese Ausscheidungsmechanismen treffen jedoch sicher nicht für die kurzen Sekretionszeiten zu. Nicht zuletzt wäre auch eine Ausscheidung der Viren über die gesamte Bronchial- und Trachealschleimhaut sowie die darin eingebetteten Becherzellen und seromukösen Schleimdrüsen möglich. Dasselbe gilt für die Ösophagusschleimhaut.

Man kann sicher nicht sagen, daß einer der genannten Ausscheidungswege der alleinige ist. Wahrscheinlich werden alle Wege beschritten, wobei allerdings der eine oder andere bevorzugt wird.

Epithelien stellen nämlich für Viren nicht so feste Schranken dar, wie man annehmen könnte. Für Rachen-, Tracheal- und Magenschleimhaut habe ich die Durchlässigkeit bereits beschrieben. Auch die Durchgängigkeit der Niere wurde erwähnt (28,16,29). Die Harnblasenschleimhaut wird ebenfalls von Phagen penetriert, wie SCHULTZ und NEVA zeigen konnten (29). Außerdem durchdringen Viren die Placenta (31,4,20); mütterliche γ -Globuline gelangen diaplacentar in den kindlichen Kreislauf und das Meconium (26). Auch die Blut-Liquor-Schranke wird von Bakteriophagen überwunden, wie die Untersuchungen von verschiedenen Autoren zeigen (28,4,12), und MUKERJEE und GHOSH haben Cholera-Phagen nach intravenöser Injektion in der Gallenblase gefunden (19). KELLER hat die Durchlässigkeit der intakten Haut für Bakteriophagen beschrieben (13).

Diese Ausführungen, sowie meine Untersuchungen zeigen, daß Viren sowohl nach intravenöser Injektion, als auch nach oraler Gabe, zumindest beim Tier mit allen Zellen des Körpers in Berührung kommen, denn es entsteht, unabhängig vom primären Kontakt, durch Resorption und Sekretion durch die Schleimhäute ein Kreislauf der Viren. Da Viren auch Antigene sind, ist es für eine Immunisierung praktisch bedeutungslos, ob dieses Antigen oral oder parenteral verabreicht wird. In beiden Fällen ist sowohl eine Antikörperbildung durch RES und Plasmazellen, als auch eine lokale Immunisierung der Darmwand möglich (24,3). Aus theoretischen Gründen sollte man das Antigen an dem Gewebe einwirken lassen, das unter natürlichen Infektionsbedingungen den Angriff des Krankheitserregers primäre auszuhalten hat. Wegen ihrer praktischen Vorteile (25) sollte die orale Immunisierung bevorzugt werden.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Eine Phagensuspension des Coli-Phagen T_3 injizierte ich in die Schwanzvene der Maus. Nach Zeiten zwischen 2 Minuten und 18 Stunden wurde der Phagengehalt des Mageninhaltes bestimmt. Die Versuchsergebnisse zeigen, daß die Modellviren bereits nach sehr kurzer Zeit im Magen erscheinen, was für einen parazellulären Sekretionsmechanismus spricht. Der höchste Titer wird nach 30 Minuten erreicht, und nach 18 Stunden wurden keine Phagen mehr nachgewiesen. Nach Ösophagusligatur ist der Phagentiter im Magen geringer, woraus geschlossen wird, daß ein großer Teil der Phagen über Speicheldrüsen, lymphatischen Rachenring, Rachenschleimhaut und Respirationstrakt ausgeschieden wird. Die Untersuchungsergebnisse ergeben einen Anhalt dafür, daß ein Kreislauf der Viren im Organismus über die Schleimhäute infolge Resorption und Sekretion stattfindet. Sekretion wird als ein weiterer Mechanismus angesehen, die Phagen aus dem Blut zu eliminieren. Die Fähigkeit der Bakteriophagen Epithelien zu durchdringen, wird anhand von Literaturbeispielen diskutiert. Resorptions- und Sekretionsuntersuchungen mit Phagen werden verglichen und es wird festgestellt, daß sowohl bei oraler, als auch bei parenteraler Gabe von Viren, diese mit allen Zellen des Körpers in Berührung kommen können. Deshalb muß es bei beiden Anwendungsarten zu einer guten immunologischen Reaktion des Körpers kommen. Auf die Bedeutung dieser Ergebnisse für die Pathogenese der Infektionskrankheiten und die Wirksamkeit von Impfungen wird hingewiesen.

S c h r i f t t u m

- 1 Barandun, S., Nusslé, D., Witschi, H.P. und Buser, F.:
Untersuchungen über den Durchtritt von Plasmaproteinen
in das Darmlumen bei gesunden Kindern.
Schweiz. Med. Wschr. 92, 353-356 (1962)
- 2 Bargmann, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie
des Menschen. Thieme, Stuttgart 1967, S. 390 u. 502
- 3 Besredka, A.: Über lokale Immunisierung.
Die Naturwissenschaften 15, 395-397 (1927)
- 4 Burckhardt, K.: Die Durchlässigkeit der Blut-Liquor-
schranke und der Placenta für Bakteriophagen.
Arch. ges. Virusf. 1, 140-154 (1939)
- 5 Clara, M.: Zur Histobiologie des Bronchialepithels.
Zschr. f. mikroskop.-anat. Forschg. 41, 321-347 (1937)
- 6 Eigler, G.: Was wissen wir über die Infektionsabwehr
des lymphatischen Rachenringes?
Med. Klin. 60, 1265-1268 (1965)
- 7 Heicken, K. und Spicher, G.: Über die Kinetik der
Inaktivierung und Reaktivierung von Phagen.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 167, 97-122 (1957)
- 8 Heicken, K. und Spicher, G.: Über die Kinetik der
Inaktivierung und Reaktivierung von Phagen IV.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 175, 321-332 (1959)
9. Herbst, E.F.G.: Das Lymphgefäßsystem und seine Ver-
richtungen. Göttingen 1844, S. 333-337

- 10 Hildebrand, G.J. and Wolochow, H.: Translocation of Bacteriophage Across the Intestinal Wall of the Rat. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 109, 183-185 (1962)
- 11 Hoffmann, M.: Tierversuche zur Schleimhautpassage und Resorptionsvirämie von T₃-Phagen nach oraler, trachealer und rektaler Gabe. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 198, 371-390 (1965)
- 12 Kasahara, M. und Uyeshima, S.: Der Übergang der Bakteriophagen vom Blut in den Liquor. Zbl. f. Bakt. I. Orig. 136, 143-146 (1936)
- 13 Keller, R.: Passage of Bacteriophage Particles through Intact Skin of Mice. Science 128, 718-719 (1958)
- 14 Keller, R. and Engley, F.: Fate of Bacteriophage Particles Introduced into Mice by Various Routes. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 98, 577-580 (1958)
- 15 Keller, R. and Zatzman, M.L.: Studies on the Factors Concerned in the Disappearance of Bacteriophage Particles from the Animal Body. Journ. Immunol. 83, 167-172 (1959)
- 16 Larkin, F.C. and Schultz, I.: A Mechanism of Viruria. Journ. Clin. Invest. 42, 931 (1963)
- 17 Madonia, J.V., Bahn, A.N. and Calandra, J.C.: Salivary Excretion of Coxsackie B-1 Virus in Rabbits. Appl. Microbiol. 14, 394-396 (1966)
- 18 Meves, M.: Aufnahme und Verteilung von radiomarkiertem Antigen von *S. typhi murium* in der Maus bei oraler, rektaler und subkutaner Anwendung. Inaug. Diss. Berlin 1966 (F.U.)

- 19 Mukerjee, S. and Ghosh, S.N.: Localization of Cholera Bacteriophage after Intravenous Injection.
Ann. Biochem. 22, 73-76 (1962)
- 20 Nakagawa, T.: Über die Durchlässigkeit der Placenta für verschiedene Mikroorganismen und Bakteriophagen.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 136, 147-151 (1936)
- 21 Panijel, J., Huppert, J. et Barbu, E.: Effets de la Congelation sur les Bacteriophages.
Ann. Inst. Pasteur 93, 183-193 (1957)
- 22 Raettig, H.: Tierexperimente zur Durchlässigkeit des Intestinaltraktes für Virus.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 191, 97-103 (1963)
- 23 Raettig, H.: Tierexperimente zur Resorptionsviraemie.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 192, 534-538 (1964)
- 24 Raettig, H.: Tierexperimente zur oralen Immunisierung mit inaktiviertem Antigen.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 182, 525-528 (1961)
- 25 Raettig, H.: Die lokale Immunisierung mit inaktiviertem Antigen gegen bakterielle Darminfektionen (Typhus, Paratyphus, Cholera, Ruhr).
Zbl. f. Bakt. I. Ref. 183, 1-54 (1962)
- 26 Roulet, D.L.A. und von Muralt, G.: Antigenanalytische Untersuchungen an Fruchtwasser- und Meconiumproteinen.
Schweiz. Med. Wschr. 91, 74-78 (1961)
- 27 Schein, A.H. and Tuma, F.: Appearance of Parenterally Administered Proteins in Saliva.
Nature 196, 1092-1093 (1962)

- 28 Schultz, I. and Frohlich, E.: Viruria and Viraliquoria in the Dog after Intravenous Injection of T₅ Bacteriophage.
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 118, 136-138 (1965)
- 29 Schultz, I. and Neva, F.A.: Relationship between Blood Clearance and Viruria after Intravenous Injection of Mice and Rats with Bacteriophages and Polioviruses.
Journ. Immunol. 94, 833-841 (1965)
- 30 Sulkin, S.E., Finkelstein, R.A. and Rosenblum, E.D.: Effect of Zymosan on Bacteriophage Clearance.
Science 125, 742-743 (1967)
- 31 Uhr, J.W., Dancis, J. and Finkelstein, M.S.: Passage of Bacteriophage ϕ x 174 Across the placenta in Guinea Pigs.
Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 113, 391-394 (1963)
- 32 Volkheimer, G.: Durchlässigkeit der Darmschleimhaut für großkorpuskuläre Elemente (Herbst-Effekt).
Zschr. f. Gastroenterol. 2, 57-64 (1964)
- 33 Volkheimer, G.: Zur Pathophysiologie der Dünndarm-Resorption, - das Phänomen der Persorption.
Aktuelle Kongreß - Berichte 2, 17. Ärztlicher Fortbildungskursus, Bad Kissingen (1967), S. 61-75
- 34 Volkheimer, G., John, H. und Schulz, F.H.: Gefäßsystem und Resorption.
Münch. med. Wschr. 107, 2293-2295 (1965)
- 35 Volkheimer, G., Hermann, H., Hermanns, E., John, H., Al Abesie, F. und Wachtel, S.: Über Resorption und Ausscheidung von intakten Hefezellen.
Zbl. f. Bakt. I. Orig. 192, 121-125 (1964)

Zum Schluß danke ich dem Robert Koch-Institut Berlin für die Möglichkeit der tierexperimentellen Untersuchungen und Herrn Prof. Dr. med. H. Raettig für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während der Arbeit.

Lebenslauf

Am 22. Juli 1941 wurde ich als Sohn des Oberbaurates Heinrich Sahm und seiner Ehefrau Senta, geb. Rathsack, in Berlin geboren.

Nach Besuch der Grundschule und der Walther-Rathenau-Schule in Berlin-Grunewald bestand ich am 1. März 1960 die Reifeprüfung. Im Sommersemester 1960 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Freien Universität Berlin. Im Sommersemester 1963 studierte ich an der Universität Kiel. Die ärztliche Prüfung bestand ich am 4. November 1966 an der Freien Universität Berlin. Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent.

